helena
Biosciences Europe
Partners in Good Science

Instructions For Use

APTT-SiL Minus
REF 5558, 5559

APTT-SiL Minus
Fiche technique

APTT-SiL Minus
Anleitung

APTT-SiL Minus
Istruzioni per l'uso

APTT-SiL Minus
Instrucciones de uso

Contents

CE

INTENDED USE

The Activated Partial Thromboplastin Time (APTT) test is used principally to detect deficiencies in the Stage I Factors, namely Factors VIII, IX, XI and XII. From its origins through the work of Langdell and coworkers[1], and later modified by others[2,3], the Activated Partial Thromboplastin Time test has been widely used for a number of years as a pre-surgical screen for assessing certain coagulation factors and in monitoring Heparin therapy. All Factors of the Intrinsic Pathway are necessary for normal results when performing the APTT test.

The APTT test is also used to monitor Heparin (UFH) therapy, showing prolonged test results at approximately 0.1 units/ml and above[5].

The test is also used in the quantitative determination (Factor Assays) of Factors VIII, IX, XI, XII.

The APTT test measures the clotting time of test plasma. An initial activation of the APTT reagent with the test plasma is followed by the addition of calcium chloride and the clotting time is measured in seconds. Deficiencies of approximately 40% and lower of Factors VIII, IX, XI and XII will result in a prolonged APTT. Heparin, in the presence of adequate amounts of AT-III will also result in a prolonged APTT.

WARNINGS AND PRECAUTIONS

All wastes containing biological material should be properly labelled and stored separately from other wastes. Dispose of all waste materials according to prescribed international, national and local regulations.

The test should be used in conjunction with clinical observations and results of other laboratory tests.

COMPOSITION

REF 5558 (5 x 10ml APTT-SiL Minus Reagent + 5 x 10ml 25mM Calcium Chloride)
REF 5559 (10 x 10ml APTT-SiL Minus Reagent + 10 x 10ml 25mM Calcium Chloride)

APTT-SiL Minus reagent contains a near-collodial particle activator (magnesium-aluminum-silicate) for optimum sensitivity to Factor deficiencies and to Heparin. The Reagent also contains phospholipids with buffer and stabilizers.

Preparation for use:

Bring to room temperature prior to use. Mix well by swirling or inversion prior to use.

STORAGE AND STABILITY

Store at 2...8°C. Do not freeze.
Stable for 30 days after opening. Avoid prolonged heating.

SAMPLE COLLECTION AND PREPARATION

A. Anticoagulant. Use buffered sodium citrate 3.2%.

B. Specimen Collection[6]

1. Obtain venous blood by clean venipuncture.
2. Immediately mix nine parts blood with one part anticoagulant, mix well by inversion of tube against the stopper.
3. Centrifuge the specimen at 1500 x g for no less than 15 minutes.
4. Remove plasma from the tube within 60 min using a plastic pipette and store in a plastic tube.
5. Test plasma sample within 4 hours, otherwise store frozen at -20°C for up to two weeks or -70°C for up to six months[6] and thaw once just prior to use.

STEP-BY-STEP PROCEDURE

A. Materials Provided:

1. APTT-SiL Minus (liquid)
2. 0.025 M Calcium chloride

B. Materials Required:

1. A manual, mechanical or photo-optical means of clot detection.
2. Suitable timer.
3. Parafilm or equivalent.
4. Precision pipettor, 0.1 ml.
5. Control Plasmas.

C. Performance of Test

The use of APTT-SiL Minus in the performance of APTT determinations is adaptive to manual or automated instruments for clot detection. See instrument manufacturers instructions for full details.

1. Prewarm well mixed APTT-SiL Minus and 0.025 M Calcium Chloride to 37°C.
2. Prewarm 0.1 ml test plasma in duplicate to 37°C for 2 minutes.
3. Forcibly add 0.1 ml prewarmed APTT-SiL Minus to plasma and start timer.
4. Incubate for exactly 5 minutes at 37°C.
5. Add 0.1 ml prewarmed 0.025 M Calcium Chloride.
6. Note time for clot formation.
7. Report result as APTT time (seconds).

D. Automated Methods, AC-4. (5558 x1000 samples, 5559 x2000 samples)

Refer to the appropriate AC-4 Operators Manual for detailed instructions.
Prepare all reagents as instructed under 'composition'.

START=17s	METHOD=Coag	MIX=0	PATIENT(Pat) vol=50μL pos=35 (CP)	Def. Plasma (DP) Vol=0μL
INCUB=300s	MATH=lin	CLEAN=0	BUFFER (BUF) Vol=0μL	R1Vol=50μL Pos=31
RUNTIME=180s	SENS=1	T-CORR=0 S-CORR=0	CLEAR (CLR) Vol=0μL	R2Vol=50μL Pos=26

INTERPRETATION OF RESULTS

Calculate the mean clotting time of duplicate determinations for each test plasma and Control Plasmas. The difference between duplicate determinations should not exceed 5% (repeat if necessary). Report the APTT time result in seconds along with the Normal Range.

Control Plasmas are to be used to help assure that test variables, such as temperature, reagents, instrumentation, pipettes, etc. are functioning properly. It is not recommended that Control values be reported with patient results.

QUALITY CONTROL

Helena Normal and Abnormal Coagulation Control Plasmas should be tested in conjunction with patient samples. It is recommended that at least one Normal and one Abnormal be run at each shift.

A Control Range should be established by the laboratory to determine the allowable variation in day to day performance of each Control Plasma.

EXPECTED VALUES

Typical Normal results using Helena APTT-SiL Minus are approximately 30-40 seconds. However, each laboratory should establish its own Normal Range using the reagents, instrumentation and techniques commonly in use in the laboratory. A Normal Range should be established using individuals representative of the population being tested within the laboratory.

A new Normal Range should be established with any change in instrumentation, blood collection techniques, anticoagulant and when changing to new lots of reagents.

LIMITATIONS

Great care must be taken to minimize variations which may occur by seemingly insignificant factors.

A. Specimen Collection.
AVOID:

1. Use of glass. Use only plastic.
2. Delayed mixing of blood with anticoagulant.
3. Hemolysis or lipemic samples.
4. Contamination with tissue thromboplastin.
5. Improper ratio of anticoagulant with blood.

B. Laboratory Techniques

1. Perform tests at 37°C.
2. Use only high purity water.
3. Optimum pH is 7.0-7.5

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Helena BioSciences or their representatives have determined the following performance characteristics as a guideline. Each laboratory should establish it's own performance data.

Precision Studies

Results are shown below:

Within Run (aPTT in seconds): Precision studies were performed in replicate on the Sysmex CA1500 using two levels of control materials.

Control	Mean	C.V.	N
Norm-Trol 1	33	0.36%	10
Ab-Trol 3	77.9	0.31%	10

Between Run (aPTT in seconds): Precision studies were performed in the same manner using two levels of control material during three runs for evaluation.

Control	Mean	C.V.	N
Norm-Trol 1	32.9	2.41%	100
Ab-Trol 3	78.3	0.77%	100

Factor Sensitivity

Studies were performed to assess the sensitivity of APTT-SiL Minus reagent to various Factor Deficiencies. The following results were obtained.

% Factor	Factor VIII (Seconds)	Factor IX (Seconds)	Factor XI (Seconds)
<1	85.7	70.9	92.4
10	45.9	44.4	50.7
40	34.2	33.9	34.4
100	28.8	28.8	28.8

Upper limit of Normal for this study = 34.9 seconds.

Heparin Sensitivity

Numerous variables can affect the behaviour of heparinized plasma samples when evaluated by the APTT test. As a general guideline, when increasing amounts of heparin were added to normal plasma, the following results were obtained using APTT-SiL Minus on a photo-optical instrument.

Heparin IU/ml	Clot Time (seconds.)
0	29.9
0.2	70.0
0.4	174

REFERENCES

1. Langdell, R., Wagner, R., Brinkhous, K.: Effect of Antihemophilic Factor on One Stage Clotting Tests. J. Lab. Clin. Med. 41: 637, 1953.
2. Proctor, R., Rapaport, S.: The Partial Thrombopastin Time with Kaolin. Am. J. Clin. Path. 36: 212, 1961.
3. Ratnoff, O., Crum, S.: Activation of Hageman Factor by Solutions of Ellagic Acid. J. Lab. Clin. Med. 63: 359, 1964.
4. Hathaway, W., Clarke, S., Christian, M., Jacobson, L.: Sensitivity of the Activated Partial Thromboplastin Time to Mild Factor Deficiencies; in Standardization of Coagulation Assays: An Overview. College of American Pathologists, Skokie, IL. pp. 131, 1982.
5. Brandt, J., Triplett, D.: Laboratory Monitoring of Heparin. Effect of Reagents and Instruments in the Activated partial Thromboplastin Time. Am. J. Clin. Path. 76: 530, 1981.
6. CLSI: Guidelines for the Standardized Collection, Transport and Preparation of Blood Specimens for Coagulation Testing and Performance of Coagulation Assays. H21-A4.

UTILISATION

Le dosage APTT sert avant tout à détecter les déficits en facteurs de premier niveau, à savoir les facteurs VIII, IX, XI et XII. Dès le début, avec les travaux de Langdell et de ses associés[1], plus tard modifiés par d'autres chercheurs[2,3], le test du temps de céphaline activée a été couramment employé pendant plusieurs années pour le dépistage préopératoire de certains facteurs de coagulation et dans le suivi des traitements à l'héparine. Tous les facteurs de la voie endogène sont requis pour obtenir des résultats normaux dans les tests APTT.

Les tests APTT servent également à suivre le traitement à l'héparine (HNF) en faisant apparaître des résultats prolongés à environ 0,1 unité/ml et au-delà[5].

Ils sont également utilisés pour l'analyse quantitative (titrages de facteur) des facteurs VIII, IX, XI, XII.

Le test APTT mesure le temps de coagulation du plasma à analyser. L'activation initiale du réactif APTT avec le plasma en question est suivie par l'ajout de chlorure de calcium ; le temps de coagulation est mesuré en secondes. Les déficits inférieurs ou à peu près égaux à 40 % en facteurs VIII, IX, XI et XII donneront un APTT prolongé. En présence d'une quantité appropriée d'AT III, l'héparine donnera elle aussi un APTT prolongé.

PRÉCAUTIONS

Tous les déchets contenant des matériaux biologiques doivent être étiquetés en conséquence et ne doivent pas être stockés avec les déchets d'autre type. Éliminez tous les déchets conformément aux règlements internationaux, nationaux et locaux.

L'analyse doit être menée en association avec les observations cliniques et d'autres analyses de laboratoire.

COMPOSITION

REF 5558 (5 x 10ml APTT-SiL Minus Réactif + 5 x 10ml 25mM chlorure de calcium)
REF 5559 (10 x 10ml APTT-SiL Minus Réactif + 10 x 10ml 25mM chlorure de calcium)

Le réactif APTT-SiL Minus contient un activateur à particules semi-colloïdales (magnésium-aluminium-silicate) pour une sensibilité optimale aux déficits de facteurs et à l'héparine. Le réactif contient aussi le phospholipide avec le tampon et les agents de stabilisation.

Préparation du réactif

Ramenez-le à température ambiante avant de l'utiliser. Mélangez bien en remuant ou en renversant avant d'utiliser.

STOCKAGE ET CONSERVATION

Conservez-le à 2...8°C sans le congeler.
Stable pendant 30 jours après ouverture. Évitez des réchauffements prolongés.

PRÉLÈVEMENT DES ÉCHANTILLONS

A. Anticoagulant. Utilisez la solution tampon de citrate de sodium, 3,2 %.
B. Prélevez l'échantillon (voir, par exemple, les directives CLSI, réf. 6)

1. Prélevez des spécimens sanguins veineux par ponction veineuse aseptique.
2. Versez immédiatement neuf volumes de sang et un volume d'anticoagulant, mélangez bien en renversant le tube sur le bouchon.
3. Centrifugez le spécimen à 1500 x g pendant au moins 15 minutes.
4. Retirez le plasma du tube dans les 60 minutes en utilisant une pipette en plastique et conservez-le dans un tube en plastique.
5. Testez les échantillons dans les 4 heures ou congelez-les à -20°C pendant un maximum de deux semaines, ou à -70°C pendant un maximum de six mois[6]; décongelez une seule fois, juste avant utilisation.

MÉTHODOLOGIE

A. Matériaux fournis

1. APTT-SiL Minus (liquide)
2. Chlorure de calcium à 0,025 M

B. Matériaux requis :

1. Un dispositif de détection manuelle, mécanique ou photo-optique des caillots.
2. Coagulomètre adapté
3. Parafilm ou équivalent
4. Pipette de précision, 0,1 ml
5. Plasmas de contrôle

C. Exécution du test

L'utilisation des tests APTT-SiL Minus doit être adaptée pour exécuter les analyses APTT selon que les dispositifs de détection de caillots sont manuels ou automatiques. Voir les instructions du fabricant du dispositif utilisé pour les détails.

1. Préchauffez le mélange d'APTT-SiL Minus et de chlorure de calcium à 0,025 M à 37°C.
2. Préchauffez 0,1 ml de plasma à analyser, en dosage double, à 37°C pendant 2 minutes.
3. Ajoutez énergiquement 0,1 ml d'APTT-SiL Minus préchauffé au plasma et lancez le coagulomètre.
4. Laissez incuber pendant 5 minutes exactement à 37°C.
5. Ajoutez 0,1 ml de chlorure de calcium à 0,025 M préchauffé.
6. Notez le temps de formation de caillots.
7. Exprimez les résultats APTT en secondes.

D. Méthodes automatisées, AC-4. (5558 x1000 échantillons, 5559 x2000 échantillons)
Se conformer au manuel d'utilisation de AC-4 correspondant pour avoir des instructions détaillées.
Préparer tous les réactifs en suivant les indications du paragraphe Composition

START=17s	METHOD=Coag	MIX=0	PATIENT(Pat) vol=50µL pos=35 (CP)	Def. Plasma (DP) Vol=0µL
INCUB=300s	MATH=lin	CLEAN=0	BUFFER (BUF) Vol=0µL	R1Vol=50µL Pos=31
RUNTIME=180s	SENS=1	T-CORR=0 S-CORR=0	CLEAR (CLR) Vol=0µL	R2Vol=50µL Pos=26

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Calculez le temps moyen de coagulation des analyses en double dosage pour chaque échantillon testé et plasma de contrôle. La différence entre les dosages doubles ne doit pas excéder les 5 % (répétez le test si nécessaire). Notez le temps APTT en secondes parallèlement à l'échelle de valeurs normale.

Les plasmas de contrôles doivent servir à garantir que les variables du type températures, réactifs, instruments, pipettes, etc. fonctionnent correctement. Nous ne recommandons pas d'attacher les valeurs de contrôle aux résultats enregistrés pour le patient.

CONTRÔLE QUALITÉ

On devra analyser des plasmas de contrôle Helena de coagulation normaux et anormaux parallèlement aux échantillons de patients. Nous recommandons d'utiliser au moins un contrôle normal et un autre anormal pour chaque série.

Une fourchette de valeurs de contrôle doit être établie pour chaque laboratoire afin d'établir les taux permissibles de variation dans l'exécution quotidienne de chaque plasma de contrôle.

VALEURS DE RÉFÉRENCE

Les résultats normaux types avec le réactif Helena APTT-SiL Minus sont d'environ 30-40 secondes. Chaque laboratoire doit toutefois établir ses propres normes en utilisant les réactifs, instruments et techniques utilisés sur place d'ordinaire. Les normes doivent être établies en utilisant des individus représentatifs de la population testée dans le laboratoire.

L'échelle de normes doit être vérifiée à chaque changement d'instruments, de techniques de prélèvements sanguins, d'anticoagulant ou de lots de réactifs.

LIMITES

On devra prendre grand soin de minimiser les variations qui pourraient résulter de facteurs apparemment insignifiants.

A. Prélèvement des échantillons

ÉVITER :

1. Usage du verre. N'utilisez que du plastique.
2. Retard dans le mélange du sang avec l'anticoagulant.
3. Échantillons hémolytiques ou lipémiques.
4. Contamination avec thromboplastine tissulaire.
5. Taux incorrects d'anticoagulant par rapport au sang.

B. Techniques de laboratoire

1. Effectuez les tests à 37°C.
2. N'utilisez que de l'eau hautement purifiée.
3. Le pH optimal est de 7,0 - 7,5.

PERFORMANCES

Helena BioSciences ou ses représentants ont déterminé à titre indicatif les performances suivantes. Chaque laboratoire doit établir ses propres données de performance.

Études de précision

Les résultats sont indiqués ci-dessous :

Intra-analyse (APTT en secondes) : Des études de précision ont été réalisées en double en analysant avec l'automate Sysmex CA1500 deux contrôles offrant des APTT différents.

Control	Mean	C.V.	N
Norm-Trol 1	33	0.36%	10
Ab-Trol 3	77.9	0.31%	10

Inter-analyses (APTT en secondes) : Des études de précision ont été réalisées dans la même façon à l'aide de deux contrôles offrant des APTT différent qui ont été analysés trois fois.

Control	Mean	C.V.	N
Norm-Trol 1	32.9	2.41%	100
Ab-Trol 3	78.3	0.77%	100

Sensibilité aux facteurs

Des études ont été effectuées pour déterminer la sensibilité du réactif APTT-SiL Minus à différents déficits de facteur. Les résultats suivants ont ainsi été obtenus:
Limite supérieure des valeurs normales pour cette étude = 34,9 secondes.

% facteur	Facteur VIII (secondes)	Facteur IX (secondes)	Facteur XI (secondes)
<1	85.7	70.9	92.4
10	45.9	44.4	50.7
40	34.2	33.9	34.4
100	28.8	28.8	28.8

Sensibilité à l'héparine

De nombreuses variables peuvent affecter le comportement des échantillons héparinisés lorsqu'ils sont soumis au test APTT. Généralement, lorsque des quantités croissantes d'héparine ont été ajoutées à du plasma normal, les résultats suivants ont été obtenus avec APTT-SiL Minus sur un instrument photo-optique:

Héparine - UI/ml	Temps de coagulation (sec)
0	29.9
0.2	70.0
0.4	174

BIBLIOGRAPHIE

1. Langdell, R., Wagner, R., Brinkhous, K.: Effect of Antihemophilic Factor on One Stage Clotting Tests. J. Lab. Clin. Med. 41: 637, 1953.
2. Proctor, R., Rapaport, S.: The Partial Thrombopastin Time with Kaolin. Am. J. Clin. Path. 36: 212, 1961.
3. Ratnoff, O., Crum, S.: Activation of Hageman Factor by Solutions of Ellagic Acid. J. Lab. Clin. Med. 63: 359, 1964.
4. Hathaway, W., Clarke, S., Christian, M., Jacobson, L.: Sensitivity of the Activated Partial Thromboplastin Time to Mild Factor Deficiencies; in Standardization of Coagulation Assays: An Overview. College of American Pathologists, Skokie, IL. pp. 131, 1982.
5. Brandt, J., Triplett, D.: Laboratory Monitoring of Heparin. Effect of Reagents and Instruments in the Activated partial Thromboplastin Time. Am. J. Clin. Path. 76: 530, 1981.
6. CLSI: Guidelines for the Standardized Collection, Transport and Preparation of Blood Specimens for Coagulation Testing and Performance of Coagulation Assays. H21-A4.

VERWENDUNGSZWECK

Der Test zur Bestimmung der aktivierten partiellen Thromboplastinzeit (APTT) dient hauptsächlich zum Nachweis von Mangelzuständen der Faktoren der Phase I, insbesondere der Faktoren VIII, IX, XI und XII. Der APTT-Test wurde durch die Arbeit von Langdell und Mitarbeitern konzipiert[1] und später durch andere modifiziert[2,3]. Seit etlichen Jahren wird er breitläufig bei der präoperativen Ermittlung gewisser Gerinnungsfaktoren und bei der Überwachung der Heparintherapie angewendet. Um mit dem APTT-Test normale Ergebnisse zu erhalten, sind alle Faktoren des intrinsischen Gerinnungssystems erforderlich.

Der APTT-Test wird auch zur Überwachung einer Heparin (UFH)-Therapie eingesetzt. Hier ergeben sich verlängerte Testergebnisse von etwa 0,1 Einheiten/ml und mehr[5].

Weiterhin dient der Test zur quantitativen Bestimmung (Faktortests) der Faktoren VIII, IX, XI, XII.

Beim APTT-Test wird die Gerinnungszeit des Testplasmas gemessen. Nach einer anfänglichen Aktivierung des APTT-Reagenzes mit dem Testplasma folgt die Zugabe von Kalziumchlorid; die Gerinnungszeit wird in Sekunden gemessen. Ein Mangel von etwa 40% oder mehr an den Faktoren VIII, IX, XI und XII führt zu einer verlängerten APTT. Heparin führt bei Vorhandensein entsprechender Mengen von AT-III ebenfalls zu einer verlängerten APTT.

WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN

Alle Abfälle, die biologisches Material enthalten, müssen ordnungsgemäß gekennzeichnet und von anderem Abfall getrennt gelagert werden. Entsorgen Sie alle Abfälle unter Beachtung der vorgeschriebenen internationalen, nationalen und örtlichen Bestimmungen.

Der Test muss in Zusammenhang mit klinischen Beobachtungen und den Ergebnissen anderer Labortests betrachtet werden.

INHALT

REF 5558 (5 x 10ml APTT-SiL Minus Reagenz + 5 x 10ml 25mM Kalziumchlorid)
REF 5559 (10 x 10ml APTT-SiL Minus Reagenz + 10 x 10ml 25mM Kalziumchlorid)

Das Reagenz APTT-SiL Minus enthält einen Aktivator aus nahezu kolloiden Partikeln (Magnesium-Aluminium-Silikat), mit dem eine optimale Sensitivität gegenüber Faktor-Mangelzuständen und Heparin erreicht wird. Außerdem enthält das Reagenz Phospholipid mit Puffer und Stabilisatoren.

Reagenzvorbereitung

Bringen Sie es vor der Verwendung auf Raumtemperatur. Vor dem Gebrauch gut mischen durch Verwirbeln oder Umdrehen.

LAGERUNG UND STABILITÄT

Bei 2...8 °C lagern. Nicht einfrieren.
Das Produkt ist nach dem Öffnen 30 Tage lang stabil. Vermeiden Sie lang andauerndes Erhitzen.

PROBENENTNAHME UND VORBEREITUNG

A. Antikoagulans. Gepuffertes Natriumcitrat von 3,2% verwenden.
B. Probensammlung (siehe z.B. die CLSI-Richtlinien, Literaturangabe 6)
1. Entnehmen Sie unter sauberen Bedingungen venöses Blut mittels Venenpunktur.
2. Versetzen Sie sofort neun Teile Blut mit einem Teil Antikoagulans, und mischen Sie gut, indem Sie das mit einem Stopfen versehene Röhrchen umdrehen.
3. Zentrifugieren Sie die Probe mindestens 15 Minuten lang bei 1500 x g.
4. Entfernen Sie innerhalb von 60 Minuten das Plasma mit einer Kunststoffpipette aus dem Röhrchen und bewahren Sie es in einem Kunststoffröhrchen auf.
5. Testen Sie die Plasmaprobe innerhalb von 4 Stunden; frieren Sie sie andernfalls bis zu zwei Wochen lang bei -20°C oder bis zu sechs Monaten bei -70°C ein[6], und tauen Sie die Probe nur einmal unmittelbar vor dem Gebrauch auf.

SCHRITT-FÜR-SCHRITT METHODE

A. Gelieferte Materialien

1. APTT-SiL Minus (flüssig)
2. 0,025 M Kalziumchlorid

B. Erforderliche Materialien:

1. Ein manuelles, mechanisches oder photooptisches Hilfsmittel zum Nachweis von Blutgerinnseln.
2. Geeigneter Timer.
3. Parafilm oder gleichwertige Vorrichtung.
4. Präzisionspipettor, 0,1 ml.
5. Kontrollplasmen.

C. Durchführung des Tests

Die Durchführung von APTT-SiL Minus mit dem APTT-Si-Test kann an manuelle und automatische Instrumente zum Nachweis von Blutgerinnseln angepasst werden. Entnehmen Sie die vollständigen Einzelheiten der Anweisung des Instrumentenherstellers.

1. Wärmen Sie gut gemischtes APTT-SiL Minus und 0,025 M Kalziumchlorid auf 37 °C vor.
2. Wärmen Sie zwei Proben des Testplasmas von 0,1 ml 2 Minuten lang auf 37 °C vor.
3. Geben Sie 0,1 ml vorgewärmtes APTT-SiL Minus zu dem Plasma hinzu, und starten Sie den Timer.
4. Inkubieren Sie genau 5 Minuten lang bei 37 °C.
5. Fügen Sie 0,1 ml von den vorgewärmten 0,025 M Kalziumchlorid hinzu.
6. Notieren Sie die Zeit der Gerinnselbildung.
7. Zeichnen Sie das Ergebnis als die APTT-Zeit in Sekunden auf.

D. Automatisierte Methoden, AC-4. (5558 x1000 Proben, 5559 x2000 Proben)

Siehe Bedienungsanleitung des verwendeten Geräts für eine genaue Anleitung.
Alle Reagenzien wie unter "Inhalt" beschrieben vorbereiten.

START=17s	METHOD=Coag	MIX=0	PATIENT(Pat) vol=50μL pos=35 (CP)	Def. Plasma (DP) Vol=0μL
INCUB=300s	MATH=lin	CLEAN=0	BUFFER (BUF) Vol=0μL	R1Vol=50μL Pos=31
RUNTIME=180s	SENS=1	T-CORR=0 S-CORR=0	CLEAR (CLR) Vol=0μL	R2Vol=50μL Pos=26

AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE

Berechnen Sie die mittlere Gerinnungszeit aus den Doppelbestimmungen für alle Test- und Kontrollplasmen. Der Unterschied der Doppelbestimmungen darf 5% nicht überschreiten (nötigenfalls wiederholen). Zeichnen Sie das Ergebnis für die APTT-Zeit in Sekunden zusammen mit dem Normalbereich auf.

Die Kontrollplasmen sind dazu vorgesehen, das ordnungsgemäße Funktionieren der Testvariablen, wie der Temperatur, der Reagenzien, Geräte, Pipetten, usw. sicherzustellen. Es wird nicht empfohlen, die Kontrollwerte zusammen mit den Patientenergebnissen anzugeben.

QUALITÄTSKONTROLLE

Zusammen mit den Patientenproben müssen Helena Normale und Anomale Koagulationskontrollplasmen getestet werden. Es wird empfohlen, in jeder Schicht mindestens eine normale und eine anomale Kontrolle zu testen.

Das Labor muss selbst einen Kontrollbereich festlegen, mit dem die zulässige tägliche Abweichung für jedes Kontrollplasma bestimmt wird.

REFERENZWERTE

Die typischen mit dem Helena APTT-SiL Minus-Test erhaltenen Normalwerte liegen etwa zwischen 30 und 40 Sekunden. Jedes Labor muss jedoch seinen eigenen Normalbereich unter Berücksichtigung der gewöhnlich verwendeten Reagenzien, Geräte und Techniken festlegen. Der Normalbereich muss mit repräsentativen Proben der im Labor getesteten Population aufgestellt werden.

Bei jeder Änderung der Apparatur, der Probennahmetechniken, des Antikoagulans und bei Wechsel zu einer neuen Reagenzcharge muss der Normalbereich neu festgelegt werden.

EINSCHRÄNKUNGEN

Es muss sorgfältig darauf geachtet werden, Variationen durch scheinbar unwesentliche Faktoren zu minimieren.

A. Probenentnahme.
VERMEIDEN SIE:

1. die Verwendung von Glas. Verwenden Sie nur Kunststoff.
2. ein verzögertes Mischen des Blutes mit Antikoagulans.
3. Hämolyse oder lipämische Proben.
4. Verunreinigung mit Gewebethromboplastin.
5. ein unrichtiges Antikoagulans-Blut-Verhältnis.

B. Labortechniken

1. Führen Sie die Tests bei 37 °C durch.
2. Verwenden Sie nur hochreines Wasser.
3. Der optimale pH-Wert beträgt 7,0-7,5.

LEISTUNGSEIGENSCHAFTEN

Die folgenden Leistungseigenschaften wurden von Helena BioSciences oder in ihrem Auftrag als Richtlinien ermittelt. Jede Labor muss seine eigenen Werte ermitteln.

Präzisionstudien

Ergebnisse wie unten gezeigt:

Innerhalb eines Laufs (aPTT in Sekunden): Präzisionsstudien wurden im Doppelansatz mit Kontrollmaterial aus zwei unterschiedlichen Stufen auf dem Sysmex CA1500 durchgeführt.

Control	Mean	C.V.	N
Norm-Trol 1	33	0.36%	10
Ab-Trol 3	77.9	0.31%	10

Zwischen Läufen (aPTT in Sekunden): In derselben Weise wurden Präzisionstudien zur Evaluierung mit Kontrollmaterial aus zwei unterschiedlichen Stufen in drei Läufen durchgeführt.

Control	Mean	C.V.	N
Norm-Trol 1	32.9	2.41%	100
Ab-Trol 3	78.3	0.77%	100

Faktor-Empfindlichkeit

Es wurden Studien durchgeführt, um die Sensitivität des APTT-SiL Minus Reagenzes gegenüber Mangelzuständen verschiedener Faktoren zu ermitteln. Dabei wurden die folgenden Ergebnisse erhalten.

% Faktor	Faktor VIII (Sekunden)	Faktor IX (Sekunden)	Faktor XI (Sekunden)
<1	85.7	70.9	92.4
10	45.9	44.4	50.7
40	34.2	33.9	34.4
100	28.8	28.8	28.8

Oberer Grenzwert des Normalbereichs für diese Studie = 34,9 Sekunden.

Heparin-Sensitivität

Das Verhalten von heparinisierten Plasmaproben kann bei der Auswertung mit dem APTT-Test durch zahlreiche Variablen beeinflusst werden. Bei der Zugabe von steigenden Mengen Heparin zu normalem Plasma wurden folgende Ergebnisse als allgemeine Richtlinie mit dem APTT-SiL Minus-Test auf einem photooptischen Instrument erhalten.

Heparin IU/ml	Gerinnungszeit (sec)
0	29.9
0.2	70.0
0.4	174

LITERATUR

1. Langdell, R., Wagner, R., Brinkhous, K.: Effect of Antihemophilic Factor on One Stage Clotting Tests. J. Lab. Clin. Med. 41: 637, 1953.
2. Proctor, R., Rapaport, S.: The Partial Thrombopastin Time with Kaolin. Am. J. Clin. Path. 36: 212, 1961.
3. Ratnoff, O., Crum, S.: Activation of Hageman Factor by Solutions of Ellagic Acid. J. Lab. Clin. Med. 63: 359, 1964.
4. Hathaway, W., Clarke, S., Christian, M., Jacobson, L.: Sensitivity of the Activated Partial Thromboplastin Time to Mild Factor Deficiencies; in Standardization of Coagulation Assays: An Overview. College of American Pathologists, Skokie, IL. pp. 131, 1982.
5. Brandt, J., Triplett, D.: Laboratory Monitoring of Heparin. Effect of Reagents and Instruments in the Activated partial Thromboplastin Time. Am. J. Clin. Path. 76: 530, 1981.
6. CLSI: Guidelines for the Standardized Collection, Transport and Preparation of Blood Specimens for Coagulation Testing and Performance of Coagulation Assays. H21-A4.

USO PREVISTO

Il test APTT viene utilizzato principalmente per rilevare i deficit dei fattori della fase I, più propriamente i fattori VIII, IX, XI e XII. Sin dalle origini, grazie all'opera di Langdell e dei suoi collaboratori[1], modificati successivamente da altri[2,3], il test di tromboplastina parziale attivato (APTT) è stato ampiamente utilizzato per diversi anni come screening preoperatorio per la valutazione di alcuni fattori di coagulazione e nel monitoraggio della terapia eparinica. Per risultati normali durante l 'esecuzione del test APTT sono necessari tutti i fattori della via intrinseca.

Il test APTT viene inoltre utilizzato per il monitoraggio della terapia eparinica (UFH), mostrando risultati di test prolungati a circa 0,1 unità/ml e oltre[5].

Il test viene impiegato anche nella determinazione quantitativa (analisi dei fattori) dei fattori VIII, IX, XI, XII.

Il test APTT misura il tempo di coagulazione del plasma di test. Dopo l'attivazione iniziale del reagente APTT con il plasma di test, viene aggiunto calcio cloruro e viene misurato il tempo di coagulazione in secondi. I deficit di entità pari a circa il 40% o meno dei fattori VIII, IX, XI e XII verranno evidenziati in un risultato di test APTT prolungato, così come l'eparina, in presenza di quantità adeguate di AT-III.

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

Tutti i rifiuti contenenti materiale biologico devono essere adeguatamente etichettati e conservati separatamente dagli altri rifiuti. Smaltire tutti i rifiuti secondo le norme internazionali, nazionali e locali.

Il test deve essere utilizzato in abbinamento alle osservazioni cliniche ed ai risultati di altri test di laboratorio.

COMPOSIZIONE

REF 5558 (5 x 10ml APTT-SiL Minus Reagent + 5 x 10ml 25mM calcio cloruro)
REF 5559 (10 x 10ml APTT-SiL Minus Reagent + 10 x 10ml 25mM calcio cloruro)

Il reagente APTT-SiL Minus contiene un attivatore di particelle paracolloidale (silicato di magnesio ed alluminio) per una maggior sensibilità nei confronti di deficit di fattori e dell'eparina. Il reagente contiene inoltre un fosfolipide con tampone e stabilizzatori.

Preparazione del reagente

Prima dell'uso portare a temperatura ambiente. Miscelare accuratamente con il vortex o capovolgere più volte prima di utilizzare il reagente.

CONSERVAZIONE E STABILITÀ

Conservare a una temperatura compresa tra 2...8°C. Non congelare.
Il reagente rimane stabile per 30 giorni dopo l'apertura. Evitare il riscaldamento prolungato.

RACCOLTA E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

A. Anticoagulante. Utilizzare tampone sodio citrato al 3,2%.
B. Campionamento (vedere ad esempio le linee guida CLSI, rif. 6).
1. Raccogliere un campione di sangue tramite venipuntura asettica.
2. Miscelare immediatamente nove parti di sangue con una parte di anticoagulante capovolgendo più volte la provetta.
3. Centrifugare il campione a 1500 x *g* per almeno 15 minuti.
4. Rimuovere il plasma dalla provetta entro 60 minuti con una pipetta di plastica, quindi conservare in una provetta di plastica.
5. Analizzare il campione di plasma entro quattro ore; in caso contrario, congelare a -20°C per un massimo di due settimane o a -70°C per un massimo di sei mesi[6] e scongelare solo prima dell'uso.

PROCEDURA

A. Materiali forniti

1. APTT-SiL Minus (liquido)
2. Calcio cloruro a 0,025 M

B. Materiali necessari:

1. Strumento manuale, meccanico o foto-ottico di rilevazione dei coaguli
2. Cronometro appropriato
3. Parafilm o altra pellicola sigillante da laboratorio
4. Pipettatore di precisione da 0,1 ml
5. Plasma di controllo

C. Esecuzione del test

L'uso del reagente APTT-SiL Minus per le determinazioni APTT è adattativo agli strumenti manuali o automatici per la rilevazione di coaguli. Per ulteriori dettagli vedere le istruzioni del produttore dello strumento.

1. Miscelare accuratamente APTT-SiL Minus e il calcio cloruro a 0,025 M quindi preriscaldare a 37°C.
2. Preriscaldare 0,1 ml di plasma di test, in doppio, a 37° C per due minuti.
3. Aggiungere forzatamente 0,1 ml di reagente APTT-SiL Minus preriscaldato al plasma e avviare il cronometro.
4. Incubare per <u>esattamente 5 minuti</u> a 37°C.
5. Aggiungere 0,1 ml di calcio cloruro preriscaldato a 0,025 M.
6. Prendere nota del tempo necessario per la formazione di coaguli.
7. Riportare il risultato come tempo APTT in secondi.

D. Metodi automatici, AC4. (5558 x1000 campioni, 5559 x2000 campioni)

Fare riferimento al manuale utente dello AC-4 appropriato per conoscere le istruzioni dettagliate
Preparare tutti i reagenti secondo le istruzioni riportate nel paragrafo COMPOSIZIONE.

START=17s	METHOD=Coag	MIX=0	PATIENT(Pat) vol=50μL pos=35 (CP)	Def. Plasma (DP) Vol=0μL
INCUB=300s	MATH=lin	CLEAN=0	BUFFER (BUF) Vol=0μL	R1Vol=50μL Pos=31
RUNTIME=180s	SENS=1	T-CORR=0 S-CORR=0	CLEAR (CLR) Vol=0μL	R2Vol=50μL Pos=26

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Calcolare il tempo medio di coagulazione delle determinazioni duplicate per ciascun plasma di test e plasma di controllo. La differenza tra le determinazioni in doppio non deve superare il 5%. Se necessario ripetere l'operazione. Riportare il risultato del tempo APTT in secondi unitamente al range normale.

Utilizzare i plasma di controllo per accertare il corretto funzionamento delle variabili di test, quali temperatura, reagenti, strumentazione, pipette e così via. Non è consigliabile riportare i valori di controllo con i risultati del paziente.

CONTROLLO QUALITÀ

I plasma di controllo Helena per coagulazione normale e per coagulazione anormale devono essere testati unitamente ai campioni da paziente. Si consiglia di eseguire un test di coagulazione normale e uno di coagulazione anormale ad ogni turno.

Ogni laboratorio deve definire un range di controllo che consenta di determinare le variazioni consentite quotidianamente per ciascun plasma di controllo.

VALORI DI RIFERIMENTO

I risultati normali standard ottenuti con il reagente Helena APTT-SiL Minus sono compresi tra 30 e 40 secondi. Tuttavia ogni laboratorio deve definire il proprio range normale utilizzando i reagenti, la strumentazione e le tecniche comunemente in uso. Per la definizione del range normale è opportuno utilizzare individui rappresentativi della popolazione da testare nell'ambito del laboratorio.

È quindi necessario definire un nuovo range normale in caso di qualsiasi variazione nella strumentazione, nelle tecniche di raccolta del sangue, nell'anticoagulante e quando si utilizza un nuovo lotto di reagenti.

LIMITAZIONI

Cercare per quanto possibile di ridurre al minimo le variazioni causate da fattori apparentemente insignificanti.

A. Campionamento.
EVITARE:

1. L'uso di vetro; utilizzare solo plastica
2. Ritardi nel miscelare sangue e anticoagulante
3. Emolisi o campioni lipemici
4. Contaminazione con tromboplastina tissutale
5. Squilibri nelle proporzioni tra anticoagulante e sangue

B. Tecniche di laboratorio

1. Eseguire i test a una temperatura pari a 37°C
2. Utilizzare solo acqua ultrapura
3. Il pH ottimale è compreso tra 7 e 7,5

CARATTERISTICHE PRESTAZIONALI

Le caratteristiche prestazionali sotto riportate sono state determinate da Helena BioSciences o dai propri rappresentanti a titolo di linee guida. Ciascun laboratorio dovrà pertanto elaborare i propri dati prestazionali.

STUDI DI PRECISIONE

I risultati appaiono come segue:

Entro la serie (aPTT in secondi): Gli studi di precisione sono stati eseguiti in replicato sul Sysmex CA1500 utilizzando due livelli di materiali di controllo.

Control	Mean	C.V.	N
Norm-Trol 1	33	0.36%	10
Ab-Trol 3	77.9	0.31%	10

Tra le serie (aPTT in secondi): Gli studi di precisione sono stati eseguiti nello stesso modo utilizzando due livelli di materiale di controllo durante tre cicli per la relativa valutazione.

Control	Mean	C.V.	N
Norm-Trol 1	32.9	2.41%	100
Ab-Trol 3	78.3	0.77%	100

Sensibilità ai fattori

Sono stati eseguiti studi di sensibilità ai fattori per valutare la sensibilità del reagente APTT-SiL Minus ai diversi deficit di fattori. Di seguito sono riportati i risultati ottenuti.

% fattore	Fattore VIII (secondi)	Fattore IX (secondi)	Fattore XI (secondi)
<1	85.7	70.9	92.4
10	45.9	44.4	50.7
40	34.2	33.9	34.4
100	28.8	28.8	28.8

Il limite superiore del range normale per questo studio è pari a 34,9 secondi.

Sensibilità all'eparina

Sono numerose le variabili che possono influire sul comportamento di campioni di plasma eparinizzato durante il test APTT. Come indicazione generale, quando al plasma normale sono state aggiunte quantità crescenti di eparina, sono stati ottenuti i risultati riportati di seguito utilizzando il reagente APTT-SiL Minus su uno strumento foto-ottico.

Eparina in IU/ml	Tempo di coagulazione (secondi)
0	29.9
0.2	70.0
0.4	174

BIBLIOGRAFIA

1. Langdell, R., Wagner, R., Brinkhous, K.: Effect of Antihemophilic Factor on One Stage Clotting Tests. J. Lab. Clin. Med. 41: 637, 1953.
2. Proctor, R., Rapaport, S.: The Partial Thrombopastin Time with Kaolin. Am. J. Clin. Path. 36: 212, 1961.
3. Ratnoff, O., Crum, S.: Activation of Hageman Factor by Solutions of Ellagic Acid. J. Lab. Clin. Med. 63: 359, 1964.
4. Hathaway, W., Clarke, S., Christian, M., Jacobson, L.: Sensitivity of the Activated Partial Thromboplastin Time to Mild Factor Deficiencies; in Standardization of Coagulation Assays: An Overview. College of American Pathologists, Skokie, IL. pp. 131, 1982.
5. Brandt, J., Triplett, D.: Laboratory Monitoring of Heparin. Effect of Reagents and Instruments in the Activated partial Thromboplastin Time. Am. J. Clin. Path. 76: 530, 1981.
6. CLSI: Guidelines for the Standardized Collection, Transport and Preparation of Blood Specimens for Coagulation Testing and Performance of Coagulation Assays. H21-A4.

USO PREVISTO

El ensayo del tiempo de tromboplastina parcial activado (APTT) se utiliza principalmente para detectar déficits de los factores de la Fase I (factores VIII, IX, XI y XII). Desde su definición por parte de Langdell *et al*[1] y tras diversas aportaciones de otros científicos[2,3], el ensayo del tiempo de tromboplastina parcial activado lleva siendo ampliamente utilizado desde hace años como un análisis prequirúrgico para valorar ciertos factores de coagulación y para monitorizar el tratamiento con heparina. Todos los factores de la vía intrínseca son necesarios para obtener resultados normales en el ensayo APTT.

El ensayo APTT también se utiliza para monitorizar el tratamiento con heparina (UFH), observándose un aumento de los resultados en el ensayo a partir aproximadamente de 0,1 unidades/ml[5].

Este ensayo también se utiliza para la cuantificación (ensayos de factor) de los factores VIII, IX, XI y XII.

El ensayo APTT mide el tiempo de coagulación del plasma problema. Tras la activación inicial del reactivo APTT con el plasma problema se realiza la adición de cloruro cálcico y se mide el tiempo de coagulación en segundos. Los déficits de aproximadamente el 40% o inferiores de los factores VIII, IX, XI y XII producen un aumento del APTT. La heparina, en presencia de cantidades adecuadas de AT-III, también produce un aumento del APTT.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Todos los residuos que contienen material biológico deben ser adecuadamente etiquetados y conservados y deben mantenerse separados de los demás residuos. Eliminar los residuos de acuerdo con las normativas internacionales, nacionales y locales.

COMPOSICIÓN

REF 5558 (5 x 10ml APTT-SiL Minus Reactivo + 5 x 10ml 25mM cloruro cálcico)
REF 5559 (10 x 10ml APTT-SiL Minus Reactivo + 10 x 10ml 25mM cloruro cálcico)

El reactivo APTT-SiL Minus contiene un activador de partículas casi-coloidal (magnesio-aluminio-silicato) que permite una sensibilidad óptima frente a los déficits de factor y frente a la heparina. El reactivo contiene asimismo un fosfolípido con tampón y estabilizadores[6].

B. Preparación de los reactivos

Antes de utilizar, esperar a que alcance la temperatura ambiente. Antes de utilizar mezclar bien mediante agitación suave o inversión.

ALMACENAMIENTO Y PERÍODO DE VALIDEZ

Conservar a una temperatura entre 2...8ºC. No congelar.
Tras su apertura, el producto es estable durante 30 días. Evitar un calentamiento prolongado.

El ensayo debe utilizarse conjuntamente con las observaciones clínicas y con los resultados de otros ensayos de laboratorio.

RECOGIDA Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS

A. Anticoagulante. Utilizar tampón citrato sódico al 3,2%.
B. Recogida de las muestras (ver, p. ej., las directrices CLSI, Ref. 6).

1. Extraer la sangre venosa mediante venipunción.
2. Añadir inmediatamente nueve partes de sangre a una parte de anticoagulante y mezclar bien invirtiendo el tubo con el tapón hacia abajo.
3. Centrifugar la muestra a 1500 rpm durante como mínimo 15 minutos.
4. Extraer el plasma del tubo antes de 60 minutos utilizando una pipeta de plástico y a continuación conservar en un tubo de plástico.
5. Analizar la muestra de plasma antes de 4 horas. También se puede conservar congelada a -20°C hasta un máximo de dos semanas o a -70°C hasta un máximo de seis meses[6] y descongelar una única vez cuando se vaya a utilizar.

PROCEDIMIENTO PASO A PASO

A. Materiales suministrados

1 APTT-SiL Minus (líquido)
2. Cloruro cálcico 0,025 M

B. Materiales necesarios:

1. Aparato manual, mecánico o foto-óptico de detección de la coagulación
2. Temporizador adecuado
3. Parafilm o equivalente
4. Pipeteador de precisión, 0,1 ml
5. Plasmas de control

C. Realización del ensayo

Para las determinaciones APTT puede utilizarse APTT-SiL Minus en instrumentos manuales o automáticos de detección de la coagulación. Para más información, véanse las instrucciones del fabricante del instrumento correspondiente.

1. Precalentar a 37°C el APTT-SiL Minus y el cloruro cálcico 0,025 M bien mezclados.
2. Precalentar 0,1 ml de plasma problema, por duplicado, a 37ºC durante 2 minutos.
3. Añadir 0,1 ml de APTT-SiL Minus precalentado al plasma y activar el temporizador.
4. Incubar durante <u>exactamente 5 minutos</u> a 37ºC.
5. Añadir 0,1 ml de cloruro cálcico 0,025 M precalentado.
6. Anotar el momento de la formación del coágulo.
7. Registrar el resultado como tiempo APTT (en segundos).

D. Métodos automatizados, AC-4.

(5558 x1000 muestras, 5559 x2000 muestras)

Consúltese el Manual del Operador del AC-4 adecuado para instrucciones detalladas.
Preparar todos los reactivos como se indica en "composición".

START=17s	METHOD=Coag	MIX=0	PATIENT(Pat) vol=50μL pos=35 (CP)	Def. Plasma (DP) Vol=0μL
INCUB=300s	MATH=lin	CLEAN=0	BUFFER (BUF) Vol=0μL	R1Vol=50μL Pos=31
RUNTIME=180s	SENS=1	T-CORR=0 S-CORR=0	CLEAR (CLR) Vol=0μL	R2Vol=50μL Pos=26

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Calcular el tiempo medio de coagulación de las determinaciones realizadas por duplicado para cada plasma problema y los plasmas de control. La diferencia entre las determinaciones duplicadas no debe ser superior al 5% (repetir en caso necesario). Registrar el tiempo APTT en segundos junto con el intervalo normal.

Deben utilizarse los plasmas de control para comprobar que las variables del ensayo (temperatura, reactivos, instrumentación, pipetas, etc.) son correctas. No se recomienda registrar los valores de los controles junto con los resultados de la muestra del paciente.

CONTROL DE CALIDAD

Los controles normal y patológico de coagulación de Helena deben ser analizados junto con las muestras problema. Se recomienda utilizar al menos un control normal y un control patológico en cada ciclo.

Cada laboratorio deberá definir su propio intervalo de control para determinar la variación aceptable de rendimiento de cada control en diferentes días.

VALORES DE REFERENCIA

El intervalo normal típico cuando se utiliza APTT-SiL Minus de Helena es de aproximadamente 30-40 segundos. Sin embargo, cada laboratorio deberá definir su propio intervalo normal utilizando sus reactivos, instrumentación y técnicas habituales. Este intervalo normal se definirá utilizando sujetos representativos de la población analizada habitualmente en el laboratorio.

Deberá determinarse un nuevo intervalo normal cada vez que se realice un cambio en la instrumentación, las técnicas de extracción de sangre o los anticoagulantes o al comenzar a utilizar un nuevo lote de reactivo.

LIMITACIONES

Es importante que las variaciones debidas a factores aparentemente no significativos sean mínimas.

A. Recogida de las muestras.
DEBERÁ EVITARSE:

1. El uso de vidrio. Utilizar únicamente plástico.
2. Una tardanza en el mezclado de la sangre con el anticoagulante.
3. El uso de muestras hemolizadas o lipémicas.
4. La contaminación con tromboplastina tisular.
5. Una proporción anticoagulante/sangre incorrecta.

B. Técnicas de laboratorio

1. Realizar los ensayos a 37°C.
2. Utilizar únicamente agua de elevada pureza.
3. El valor óptimo de pH es de 7,0-7,5.

CARACTERÍSTICAS FUNCIONALES

Helena BioSciences o sus representantes han determinado las siguientes características de rendimiento como directriz. Cada laboratorio debe establecer sus propios datos de rendimiento.

Estudios de precisión

Los resultados son los siguientes:

Dentro de las pruebas (TTPa en segundos): Se realizaron estudios de precisión por duplicado con el Sysmex CA1500 usando dos niveles de materiales control.

Control	Mean	C.V.	N
Norm-Trol 1	33	0.36%	10
Ab-Trol 3	77.9	0.31%	10

Entre pruebas (TTPa en segundos): Los estudios de precisión se realizaron del mismo modo utilizando dos niveles de material de control durante tres pruebas para evaluarlos.

Control	Mean	C.V.	N
Norm-Trol 1	32.9	2.41%	100
Ab-Trol 3	78.3	0.77%	100

Sensibilidad a los factores

Se han realizado estudios para valorar la sensibilidad del reactivo APTT-SiL Minus frente a diferentes déficits de factor, obteniéndose los siguientes resultados:
Límite superior de la normalidad para este estudio = 34,9 seg.

% de factor (seg.)	Factor VIII (seg.)	Factor IX (seg.)	Factor XI (seg.)
<1	85.7	70.9	92.4
10	45.9	44.4	50.7
40	34.2	33.9	34.4
100	28.8	28.8	28.8

Sensibilidad a la heparina

Existen ciertas variables que pueden afectar al comportamiento de las muestras de plasma heparinizadas cuando estas son evaluadas mediante el ensayo APTT. A modo de guía cabe mencionar que cuando, utilizando APTT-SiL Minus en un instrumento foto-óptico, se añadieron cantidades crecientes de heparina a un plasma normal se obtuvieron los siguientes resultados:

Heparina - UI/ml	Tiempo de coagulación (seg.)
0	29.9
0.2	70.0
0.4	174

BIBLIOGRAFÍA

1. Langdell, R., Wagner, R., Brinkhous, K.: Effect of Antihemophilic Factor on One Stage Clotting Tests. J. Lab. Clin. Med. 41: 637, 1953.
2. Proctor, R., Rapaport, S.: The Partial Thrombopastin Time with Kaolin. Am. J. Clin. Path. 36: 212, 1961.
3. Ratnoff, O., Crum, S.: Activation of Hageman Factor by Solutions of Ellagic Acid. J. Lab. Clin. Med. 63: 359, 1964.
4. Hathaway, W., Clarke, S., Christian, M., Jacobson, L.: Sensitivity of the Activated Partial Thromboplastin Time to Mild Factor Deficiencies; in Standardization of Coagulation Assays: An Overview. College of American Pathologists, Skokie, IL. pp. 131, 1982.
5. Brandt, J., Triplett, D.: Laboratory Monitoring of Heparin. Effect of Reagents and Instruments in the Activated partial Thromboplastin Time. Am. J. Clin. Path. 76: 530, 1981.
6. CLSI: Guidelines for the Standardized Collection, Transport and Preparation of Blood Specimens for Coagulation Testing and Performance of Coagulation Assays. H21-A4.

Helena Biosciences Europe
Queensway South
Team Valley Trading Estate
Gateshead
Tyne and Wear
NE11 0SD

Tel: +44 (0) 191 482 8440
Fax: +44 (0) 191 482 8442
Email: info@helena-biosciences.com
www.helena-biosciences.com

HL-2-1787P 2008/03 (1)